

要 約

報告番号	甲 ㊦ 第	号	氏 名	塩 田 芽 実
------	-------	---	-----	---------

主 論 文 題 名

Gold-nanofève surface-enhanced Raman spectroscopy visualizes hypotaurine as a robust anti-oxidant consumed in cancer survival

(金ナノ粒子を利用した表面増強ラマンイメージングにより明らかにされた抗酸化物質ヒポタウリンを介したがんの生存戦略)

(内 容 の 要 旨)

表面増強ラマン散乱 (Surface enhanced Raman scattering: SERS) は、高感度で生体分子の原子間振動を同定する技術である。凍結組織切片を用いた病理診断に供するためには、無染色・非標識で代謝物等を検出できることは利点である一方、イメージングを行うために金ナノ粒子を数 μm 四方の平面上に高均一に分散させることと、夾雑系の中から有意な信号のみを選択して処理するシステムが必要であった。本研究は、がんを含む凍結組織切片においてがんの所在を特定できるシステムを開発し、がんと非がん部の代謝物組成の違いを利用したがん部の自動抽出法を確立することを目的とした。

まず申請者らはボトムアップ型の自己組織化プロセスにより、ソラマメ状の金ナノ粒子を大面積上で高均一に分散させたイメージング用基板: Gold-nanofève (GNF) を開発し、従来のSERS基板に比べて信号増強効果が強く空間的に均一なSERSイメージングを可能とした。これまで高エネルギーのレーザー照射が必要な質量分析イメージングでは、酸化変性のために正確な定量ができなかった還元型グルタチオン、検出困難であったヒポタウリンやポリスルフィドなど、システインから生成される代謝物が低エネルギーの近赤外レーザー照射下で一括半定量的に画像化可能となった。

GNF基板を用い、超免疫不全マウス (NOGマウス) の脾臓にヒト大腸がん細胞株 HCT116 を異種移植後2週後に肝臓内に形成される転移病巣、あるいはマウス神経幹細胞の脳内同種移植による神経膠芽腫の凍結組織切片をGNF上に貼付し実験に供した。肝転移モデルにおいては、がん部で還元型グルタチオンが周囲の実質領域に比して有意に高値を示すこと、ヒポタウリンは実質より低いもののグルタチオンと同等量で検出が可能であることが示された。細胞外からのシスチン摂取に必須であるCD44をノックダウンしたHCT116の転移病巣では、腫瘍の退縮とともにグルタチオンは有意に低下したが、ヒポタウリンは維持されることが明らかになった。がん細胞株培養系における $^{13}\text{C}_6\text{-glucose}$ の代謝流速解析の結果、CD44のノックダウンを施すとATPが低下するものの、セリン合成系酵素群の誘導が起こることによってATP非依存性のヒポタウリン合成が活性化し、抗酸化能が代償されてがん細胞が生存する可能性が示唆された。また神経膠芽腫モデルでは腫瘍部でポリスルフィドが高値を示すことが示された。さらに申請者はSERSスペクトルの統計画像解析によるがん部の抽出を試みた。がん部と肝実質部で得たスペクトルピークのうち両部で有意差を示した信号成分のみを処理し、ノイズ除去と二値化処理を経てがん部を自動抽出するアルゴリズム開発に成功した。境界明瞭な大腸がんの肝転移モデルで高い正解率が得られるとともに、境界不明瞭な神経膠芽腫モデルでも病理専門医による組織診断アノテーションの結果とよく一致する結果を得た。

以上の結果より開発したGNF基板はSERSイメージングによる組織内がん部自動抽出に資する技術であることが示された。